

## Beschreibung

## Kühleinrichtung zur Kryokonservierung und entsprechendes Betriebsverfahren

- 5 Die Erfindung betrifft eine Kühleinrichtung, insbesondere zur Kryokonservierung biologischer Proben, gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1 sowie ein entsprechendes Betriebsverfahren gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 23.
- 10 Es ist im Rahmen der sogenannten Kryokonservierung bekannt, biologische Proben, wie beispielsweise Stammzellen, einzufrieren, um diese vitalitätserhaltend zu konservieren. Zur vollständigen Vitalitätserhaltung ist hierbei eine Abkühlung bis auf weniger als  $-130^{\circ}$  Celsius erforderlich, so dass als
- 15 Kühlmittel üblicherweise verflüssigter Stickstoff eingesetzt wird. Für die Vitalitätserhaltung bei der Kryokonservierung ist jedoch nicht nur die geringe Lagerungstemperatur wichtig, sondern auch die Einhaltung eines vorgegebenen zeitlichen Temperaturverlaufs beim Einfrieren und Auftauen.
- 20 Zur Erfüllung dieser Anforderungen sind beispielsweise aus DE 88 07 267.3 Kühleinrichtungen erhältlich, die als Kühlmittel verflüssigten Stickstoff verwenden, der einen Siedepunkt von  $-196^{\circ}\text{C}$  aufweist. Der flüssige Stickstoff befindet sich hier-
- 25 bei zunächst in einem Kühlmittelvorratsbehälter und wird darin von einem elektrisch betriebenen Verdampfer erwärmt, wobei der ausgasende Stickstoff über eine Kühlmittelzuleitung in eine Kühlkammer geführt wird und deren Innenraum entsprechend kühlt, so dass in der Kühlkammer befindliches Kühlgut einge-
- 30 froren wird.

Das einfache Ausgasen von Stickstoff durch den Verdampfer ermöglicht jedoch nur Kühlmitteltemperaturen nahe dem Siedepunkt von  $-196^{\circ}\text{C}$ , wohingegen die Kühlkammer insbesondere wäh-

rend des Einfrierens und Auftauens auch auf höhere Temperaturen gekühlt werden soll. In der Kühlmittelzuleitung zwischen dem Kühlmittelvorratsbehälter und der Kühlkammer ist deshalb eine elektrisch betriebene Heizung angeordnet, die den ausga-  
5 senden Stickstoff auf die gewünschte Temperatur aufheizt.

Die bekannten Kühleinrichtungen weisen darüber hinaus eine Regeleinrichtung auf, die als Regelgröße die Temperatur des in die Kühlkammer eingeleiteten Kühlmittels misst und als  
10 Stellgröße die Heizleistung der in der Kühlmittelzuleitung angeordneten Heizung einstellt, um beim Einfrieren und Auftauen den gewünschten zeitlichen Temperaturverlauf zu erreichen. Die Regeleinrichtung steuert hierbei also nur eine einzige Heizung an und wertet nur eine einzige Temperatur aus.

15 Nachteilig an den vorstehend beschriebenen bekannten Kühleinrichtungen ist jedoch das unbefriedigende Regelverhalten, was sich in einem Überschwingen zwischen Soll- und Ist-Temperatur äußert und beim Einfrieren und Auftauen zu einer Abweichung  
20 von dem gewünschten zeitlichen Temperaturverlauf führt. Im Ergebnis kann das unbefriedigende Regelverhalten der bekannten Kühleinrichtungen zu einer Schädigung der zu konservierenden biologischen Proben führen.

25 Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, bei den vorstehend beschriebenen bekannten Kühleinrichtungen das Temperaturregelverhalten zu verbessern.

Diese Aufgabe wird, ausgehend von den eingangs beschriebenen  
30 bekannten Kühleinrichtungen gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1, durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruchs 1 und - hinsichtlich eines entsprechenden Betriebsverfahrens - durch die Merkmale des Anspruchs 23 gelöst.

Die Erfindung umfasst die allgemeine technische Lehre, als Regelgrößen nicht nur die Temperatur in der Kühlkammer zu erfassen, sondern mindestens eine weitere Temperatur, wie beispielsweise die Temperatur des der Kühlkammer zugeführten aufgewärmten Kühlmittels.

Darüber hinaus umfasst die Erfindung auch die allgemeine technische Lehre, zusätzlich zu der Heizleistung der in der Kühlmittelzuleitung angeordneten Heizung mindestens eine weitere Stellgröße einzustellen, wie beispielsweise die Heizleistung des in dem Kühlmittelvorratsbehälter angeordneten Verdampfers.

Vorzugsweise weist die erfindungsgemäße Kühleinrichtung deshalb einen Mehrfachregler auf, der als Regelgrößen mehrere Temperaturen erfasst und/oder als Stellgrößen mehrere Heizleistungen einstellt. Der hier verwendete Begriff eines Mehrfachreglers ist allgemein zu verstehen und nicht auf einen einzigen Regler beschränkt, der mehrere Eingänge und/oder mehrere Ausgänge aufweist. Es ist vielmehr auch möglich, dass der Mehrfachregler zwei im wesentlichen getrennte Regelkreise aufweist.

So kann beispielsweise ein Regelkreis als Regelgröße die Temperatur in der Kühlkammer erfassen und als Stellgröße die Heizleistung des Verdampfers einstellen, während ein anderer Regelkreis als Regelgröße die Temperatur des erwärmten Kühlmittels vor der Einleitung in die Kühlkammer erfasst und als Stellgröße die Heizleistung der in der Kühlmittelzuleitung angeordneten Heizung einstellt.

Falls die Ist-Temperatur in der Kühlkammer über der Soll-Temperatur liegt, wird die Heizleistung des Verdampfers er-

höht, so dass mehr Stickstoff ausgast und in die Kühlkammer gelangt, was zu einer entsprechend stärkeren Kühlung führt.

Falls die Ist-Temperatur in der Kühlkammer dagegen geringer ist als die Soll-Temperatur, wird die Heizleistung des Verdampfers verringert, damit weniger Stickstoff ausgast. Dieses Herunterregeln des Verdampfers bei ausreichender Kühlung hat auch den Vorteil, dass nicht unnötig Stickstoff verbraucht wird.

10

Die Regelung der Heizleistung der in der Kühlmittelzuleitung angeordneten Heizung erfolgt in ähnlicher Weise, indem diese Heizleistung erhöht wird, wenn die Ist-Temperatur des erwärmten Kühlmittels unter der Soll-Temperatur in der Kühlkammer liegt. Entsprechend wird die Heizleistung der in der Kühlmittelzuleitung angeordneten Heizung verringert, wenn die Ist-Temperatur des erwärmten Kühlmittels über der Soll-Temperatur in der Kühlkammer liegt.

15

20 In einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung erfolgt die Messung der Temperatur in der Kühlkammer nicht durch einen einzigen Temperatursensor, sondern durch mehrere Temperatursensoren, die vorzugsweise räumlich verteilt angeordnet sind, um örtliche Temperaturschwankungen innerhalb der Kühlkammer erfassen zu können. Die Regeleinrichtung kann dann die Ausbildung lokaler Temperaturspitzen innerhalb der Kühlkammer durch eine Mittelwertbildung berücksichtigen und eine Dokumentation der tatsächlichen Temperaturverteilung liefern.

25

30 Darüber hinaus ist es vorteilhaft, wenn mindestens ein Temperatursensor ein Thermoelement aufweist, während ein anderer Temperatursensor als temperaturabhängiger elektrischer Widerstand ausgebildet ist. Eine derartige Kombination unterschiedlicher Sensortypen ist sinnvoll, da auf diese Weise die

Vorteile der unterschiedlichen Sensortypen genutzt werden können, wohingegen die Nachteile vermieden werden. So weisen Thermoelemente als Temperatursensoren ein gutes dynamisches Verhalten auf, wohingegen die Genauigkeit relativ gering ist.

5 Temperaturabhängige elektrische Widerstände weisen dagegen aufgrund ihrer thermischen Trägheit ein schlechtes dynamisches Verhalten, aber eine hohe Genauigkeit auf. Durch eine Kombination dieser beiden Sensortypen lässt sich die Temperatur also hochdynamisch und sehr genau messen.

10

Als temperaturabhängige elektrische Widerstände können beispielsweise sogenannte NTCs (negativ temperature coefficient) oder PTCs (positive temperature coefficient) eingesetzt werden.

15

Darüber hinaus weist die erfindungsgemäße Kühleinrichtung vorzugsweise eine Speichereinrichtung auf, um die Temperatur in der Kühlkammer und/oder die Temperatur des erwärmten Kühlmittels vor dem Eintritt in die Kühlkammer zu protokollieren.

20 Beispielsweise kann hierzu ein handelsüblicher PC eingesetzt werden, der über eine Datenschnittstelle mit der Regeleinrichtung der erfindungsgemäßen Kühleinrichtung verbunden ist. Darüber hinaus kann ein derartiger PC auch die Aufgabe übernehmen, die gewünschten zeitlichen Temperaturverläufe beim  
25 Einfrieren und Auftauen vorzugeben.

Bei der Kryokonservierung biologischer Proben ist es ferner wünschenswert, räumliche Temperaturschwankungen innerhalb der Kühlkammer zu vermeiden, damit unabhängig von der Positionierung der zu konservierenden biologischen Probe innerhalb der  
30 Kühlkammer ein definiertes Einfrieren bzw. Auftauen möglich ist. In dem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung mündet die Kühlmittelzuleitung deshalb über einen Diffusor in die Kühlkammer, wobei der Diffusor das einströmende Kühlmit-

tel möglichst gleichmäßig innerhalb der Kühlkammer verteilt. Ein derartiger Diffusor kann beispielsweise aus einer Vorkammer bestehen, in die das Kühlmittel zunächst eingeleitet wird, wobei die Vorkammer über Auslässe großflächig mit der  
5 Kühlkammer verbunden ist, um lokale Temperaturbeeinflussungen zu vermeiden.

In einer Variante der Erfindung mündet die Kühlmittelzuleitung hierbei seitlich und vorzugsweise nur an einer Seite der  
10 Kühlkammer in die Kühlkammer. Dies ist vorteilhaft, da sich dann innerhalb der Kühlkammer Kühlmittelströmungen ausbilden, die schnell zu einer Durchmischung und einer Temperaturangleichung führen.

15 In einer anderen Variante der Erfindung mündet die Kühlmittelzuleitung dagegen an der Oberseite der Kühlkammer in die Kühlkammer, was insbesondere dann sinnvoll sein kann, wenn die Kühlkammer eine an der Unterseite offene Kühlglocke ist.

20 Der hier erwähnte Begriff einer Kühlkammer ist also nicht auf stationäre Kühlkammern beschränkt, in die das Kühlgut eingebracht wird. Es ist vielmehr auch möglich, dass die Kühlkammer eine mobile Kühlglocke ist, die auf das jeweilige Kühlgut aufgesetzt wird.

25 Ferner ist zu erwähnen, dass die Erfindung nicht auf Stickstoff als Kühlmittel beschränkt. Es ist im Rahmen der Erfindung vielmehr auch möglich, andere Kühlmittel zu verwenden, wie beispielsweise Luft oder Helium.

30 Darüber hinaus umfasst die Erfindung auch ein entsprechendes Betriebsverfahren für eine derartige Kühleinrichtung.

Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet oder werden nachstehend zusammen mit der Beschreibung dem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen:

5

Figur 1 eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Kühleinrichtung zur Kryokonservierung biologischer Proben,

10 Figur 2 ein alternatives Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Kühleinrichtung,

Figur 3 ein regelungstechnisches Ersatzschaltbild der erfindungsgemäßen Kühleinrichtung sowie

15

Figur 4 einen zeitlichen Temperaturverlauf in der Kühlkammer beim Einfrieren biologischer Proben.

Die in Figur 1 dargestellte Kühleinrichtung dient zur vitalitätserhaltenden Kryokonservierung biologischer Proben, wobei  
20 die Proben in einer Kühlkammer 1 eingefroren und aufgetaut werden.

Weiterhin weist die Kühleinrichtung einen Kühlmittelvorratsbehälter 2 auf, in dem sich verflüssigter Stickstoff als  
25 Kühlmittel 3 befindet, wobei das Kühlmittel 3 von einem elektrisch betriebenen Verdampfer 4 verdampft werden kann.

Das in dem Kühlmittelvorratsbehälter 2 ausgasende Kühlmittel 3 mit einer Temperatur nahe dem Siedepunkt von  $-196^{\circ}\text{C}$  gelangt dann über eine Kühlmittelzuleitung 5 in die Kühlkammer 1, was zu einer entsprechenden Kühlung führt.

Der Verdampfer 4 weist hierbei eine einstellbare Heizleistung P1 auf, um die Intensität der Kühlung variieren zu können. So gast bei einer großen Heizleistung P1 des Verdampfers viel Kühlmittel 3 aus, was zu einer entsprechenden starken Kühlwirkung führt. Bei einer geringen Heizleistung P1 des Verdampfers 4 gast dagegen weniger Kühlmittel 3 aus, so dass auch die Kühlwirkung geringer ausfällt.

Zur Temperierung der Kühlkammer 1 ist darüber hinaus eine Heizung 6 mit einer einstellbaren Heizleistung P2 vorgesehen, wobei die Heizung 6 in der Kühlmittelzuleitung 5 angeordnet ist und das aus dem Kühlmittelvorratsbehälter 2 ausgasende Kühlmittel 3 vor dem Eintritt in die Kühlkammer 1 erwärmt, um insbesondere während des Einfrierens und Auftauens Temperaturen oberhalb des Siedepunktes von  $-196^{\circ}\text{C}$  zu erreichen.

Zur Temperaturüberwachung sind vier Temperatursensoren 7-10 vorgesehen, wobei der Temperatursensor 7 einen Temperaturwert T1 misst, der die Temperatur des von der Heizung 6 erwärmten Kühlmittels 3 vor dem Eintritt in die Kühlkammer 1 wiedergibt.

Die Temperatursensoren 8-10 messen dagegen Temperaturwerte T2, T3 bzw. T4, welche die Temperatur innerhalb der Kühlkammer 1 an verschiedenen Punkten wiedergeben.

Die Temperatursensoren 8-10 sind hierbei räumlich verteilt angeordnet, so dass lokale Temperaturspitzen innerhalb der Kühlkammer 1 durch eine Mittelwertbildung ausgeglichen werden können.

Zur Temperaturregelung ist hierbei eine Regeleinrichtung 11 vorgesehen, die als Regelgrößen die Temperaturen T1-T4 erfasst und als Stellgrößen die Heizleistung P1 des Verdamp-



fers 4 und die Heizleistung P2 der Heizung 6 einstellt, um beim Einfrieren und Auftauen einen gewünschten zeitlichen Temperaturverlauf einzuhalten, wobei der Temperaturverlauf durch einen herkömmlichen PC 12 vorgegeben werden kann, der mit der Regeleinrichtung 11 über eine Datenschnittstelle verbunden ist. Darüber hinaus protokolliert der PC 12 auch die von den Temperatursensoren 7-10 gemessenen Temperaturwerte T1-T4 und speichert diese für eine spätere Auswertung ab.

10 Ferner ist zu erwähnen, dass die Kühlmittelzuleitung 5 nicht direkt in die Kühlkammer 1 mündet, sondern indirekt über eine Vorkammer 13, um räumliche Temperaturschwankungen innerhalb der Kühlkammer 1 zu vermeiden. Hierzu weist die Vorkammer am Übergang zu der Kühlkammer 1 einen Diffusor 14 auf, der zu  
15 einer Verwirbelung des in die Kühlkammer 1 eintretenden Kühlmittels 3 führt. Darüber hinaus ist der Austrittsquerschnitt der Vorkammer 13 am Übergang zu der Kühlkammer 1 wesentlich größer als der Eintrittsquerschnitt am Übergang von der Kühlmittelzuleitung 5 zu der Vorkammer 13, so dass die Kühlmittel-  
20 teleinleitung in die Kühlkammer 1 relativ großflächig erfolgt.

Anhand des regelungstechnischen Ersatzschaltbildes in Figur 3 wird im Folgenden das Temperaturregelverhalten der Regeleinrichtung 11 beschrieben.  
25

So gibt der PC 12 laufend eine Soll-Temperatur  $T_{\text{SOLL}}$  vor, die von einem Subtrahierer 20 mit einer Ist-Temperatur  $T_{\text{IST,KAMMER}}$  verglichen wird, wobei die Ist-Temperatur  $T_{\text{IST,KAMMER}}$  als Mittelwert aus den Temperaturen T2, T3 und T4 berechnet wird.  
30

Der Subtrahierer 20 berechnet aus der Soll-Temperatur  $T_{\text{SOLL}}$  und der Ist-Temperatur  $T_{\text{IST,KAMMER}}$  in der Kühlkammer 1 eine Soll-Ist-Abweichung  $\Delta T_{\text{KAMMER}}$  und führt diese einem Regler 21

zu, der die Heizleistung  $P_1$  des Verdampfers 4 entsprechend einstellt.

Weiterhin zeigt das regelungstechnische Ersatzschaltbild eine  
5 Regelstrecke 22, die auf die Heizleistung  $P_1$  des Verdampfers 4 und die Heizleistung  $P_2$  der Heizung 6 reagiert, so dass sich die Ist-Temperatur  $T_{\text{IST,KAMMER}}$  einstellt.

Neben dem vorstehend beschriebenen Regelkreis für den Ver-  
10 dampfer 4 weist die Regeleinrichtung 11 einen weiteren Regelkreis zur Einstellung der Heizleistung  $P_2$  der Heizung 6 auf.

So wird die Soll-Temperatur  $T_{\text{SOLL}}$  für die Temperatur innerhalb der Kühlkammer 1 einem weiteren Subtrahierer 23 zugeführt,  
15 der die Soll-Temperatur  $T_{\text{SOLL}}$  mit der Ist-Temperatur  $T_1$  des erwärmten Kühlmittels vergleicht. Der Subtrahierer 23 berechnet daraus eine Soll-Ist-Abweichung  $\Delta T_{\text{KÜHLMITTEL}}$  und führt diese einem weiteren Regler 24 zu, der die Heizleistung  $P_2$  der Heizung 6 entsprechend einstellt, worauf die Regelstrecke 22  
20 entsprechend reagiert, so dass sich die Ist-Temperatur  $T_1$  einstellt.

Der Regler 24 steuert die Heizleistung  $P_2$  der Heizung 6 hierbei so, dass die Ist-Temperatur  $T_1$  des der Kühlkammer 1 zugeführten Kühlmittels 3 möglichst der Soll-Temperatur  $T_{\text{SOLL}}$   
25 innerhalb der Kühlkammer 1 entspricht.

Das in Figur 2 dargestellte Ausführungsbeispiel stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 1 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen auf die vorstehende Beschreibung zu Figur 1 verwiesen wird und im folgenden für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden, die lediglich zur Unterscheidung durch einen Apostroph gekennzeichnet sind.  
30

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Kühlkammer 1' an ihrer Unterseite offen und glockenförmig ausgebildet ist. Die Kühlkammer 1' ist hierbei also mobil und kann so auf eine einzufrierende biologische Probe 15' aufgesetzt werden, wobei die Probe 15' auf einem festen Untergrund 16', wie beispielsweise einem Labortisch, ruht. Die Kühlmittelzuleitung 5' ist deshalb in diesem Ausführungsbeispiel flexibel, um eine flexible Handhabung der Kühlkammer 1' zu ermöglichen.

Ein weiterer Unterschied dieses Ausführungsbeispiels gegenüber dem in Figur 1 gezeigten Ausführungsbeispiel besteht darin, dass die Kühlmittelzuleitung 5' an der Oberseite der Kühlkammer 1' in die Kühlkammer 1' mündet.

Darüber hinaus kann die Kühleinrichtung in diesem Ausführungsbeispiel einen weiteren Temperatursensor 17' aufweisen, der in der Kühlkammer 1' mittels eines Haltearms 18' angebracht ist. Der Haltearm 18' positioniert den Temperatursensor 17' hierbei innerhalb der Kühlkammer 1' an der Stelle, an der sich die Probe 15' befindet, wenn die Kühlkammer 1' auf den Untergrund 16' aufgesetzt ist. Auf diese Weise misst der Temperatursensor 17' sehr genau die lokale Temperatur am Ort der Probe 15', was eine sehr genaue Temperaturregelung ermöglicht.

Weiterhin kann in diesem Ausführungsbeispiel ein Temperatursensor 19' direkt auf der Probe 15' oder einem die Probe 15' tragenden Substrat angeordnet sein, was eine noch genauere Messung der Proben temperatur ermöglicht, da örtliche Temperaturschwankungen innerhalb der Kühlkammer 1' außer Betracht bleiben.

Die Übertragung der von dem Temperatursensor 19' gemessenen Temperatur zu der Regeleinrichtung 11' kann beispielsweise durch herkömmliche elektrische Leitungen erfolgen. Es ist jedoch grundsätzlich auch möglich, die von dem Temperatursensor 19' gemessene Temperatur drahtlos zu der Regeleinrichtung 11' zu übertragen. Durch eine derartige drahtlose Übertragung wird die Mobilität und Portabilität der Kühlkammer 1' nicht beeinträchtigt. Die drahtlose Übertragung der gemessenen Temperatur kann beispielsweise durch einen Transponder erfolgen, der in den Temperatursensor 19' oder einen Probenträger integriert ist. Hinsichtlich der Übertragungsart bestehen hierbei vielfältige Möglichkeiten, die an sich bekannt sind, wie beispielsweise Funkübertragung, Ultraschall-Übertragung, optischen Übertragung, insbesondere Infrarot-Übertragung, etc..

Figur 4 zeigt schließlich einen typischen zeitlichen Temperaturverlauf in der Kühlkammer 1 beim Einfrieren einer biologischen Probe im Rahmen der Kryokonservierung. Daraus ist ersichtlich, dass beim Einfrieren mehrere Kühl- und Aufwärmphasen nacheinander durchfahren werden, um die biologischen Proben möglichst vitalitätserhaltend einzufrieren.

Es sind jedoch im Rahmen der Erfindung beliebige Kühl- und Aufwärmphasen möglich, wobei die Dauer der einzelnen Phasen und die Kühl- bzw. Aufwärmtemperatur beliebig festgelegt werden kann.

Die Erfindung ist nicht auf die vorstehend beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiele beschränkt. Vielmehr ist eine Vielzahl von Varianten und Abwandlungen möglich, die ebenfalls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

16211/PCT

## Bezugszeichenliste:

1, 1'	Kühlkammer
2, 2'	Kühlmittelvorratsbehälter
3, 3'	Kühlmittel
4, 4'	Verdampfer
5, 5'	Kühlmittelzuleitung
6, 6'	Heizung
7, 7'	Temperatursensor
8, 8'	Temperatursensor
9, 9'	Temperatursensor
10, 10'	Temperatursensor
11, 11'	Regeleinrichtung
12, 12'	PC
13, 13'	Vorkammer
14, 14'	Diffusor
15'	Probe
16'	Untergrund
17'	Temperatursensor
18'	Haltearm
19'	Temperatursensor
20	Subtrahierer
21	Regler
22	Regelstrecke
23	Subtrahierer
24	Regler
P1, P1'	Heizleistung des Verdampfers
P2, P2'	Heizleistung der Heizung
T1, T1'	Temperatur des erwärmten Kühlmittels
T2-T4, T2', T3'	Temperatur innerhalb der Kühlkammer

## ANSPRÜCHE

- 5 1. Kühleinrichtung, insbesondere zur Kryokonservierung biologischer Proben (15'), mit
- einer Kühlmittelzuleitung (5, 5') zur Zuführung eines Kühlmittels (3, 3') zu einer Kühlkammer (1, 1'),
  - einer Heizung (6, 6') mit einer einstellbaren ersten Heizleistung (P2) zur Erwärmung des der Kühlkammer (1, 1') zugeführten Kühlmittels (3, 3'),
  - einem ersten Temperatursensor (8-10, 8', 9', 17', 19') zur Messung der Temperatur (T2-T4, T2', T3') in der Kühlkammer (1, 1'),
  - 15 - einem zweiten Temperatursensor (7, 7') zur Messung der Temperatur (T1, T1') des der Kühlkammer (1, 1') zugeführten Kühlmittels (3, 3'),
  - einem Regler (11, 11') zur Temperaturregelung,  
**dadurch gekennzeichnet, dass**
- 20 der Regler (11, 11') ein Mehrfachregler ist, der als Regelgrößen mehrere Temperaturen (T1-T4, T1'-T3') erfasst und/oder als Stellgrößen mehrere Heizleistungen (P1, P1', P2, P2') einstellt.
- 25 2. Kühleinrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kühlmittelzuleitung (5, 5') mit einem Kühlmittelvorratsbehälter (2, 2') verbunden ist, in dem sich das Kühlmittel (3, 3') befindet.
- 30 3. Kühleinrichtung nach Anspruch 2, **gekennzeichnet durch** einen Verdampfer (4, 4') mit einer einstellbaren zweiten Heizleistung (P1, P1') zur Verdampfung des in dem Kühlmittelvorratsbehälter (2, 2') befindlichen Kühlmittels (3, 3').

4. Kühleinrichtung nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Mehrfachregler (11, 11') eingangsseitig mit dem ersten Temperatursensor (8-10, 8', 9', 17', 19') und dem zweiten Temperatursensor (7, 7') und ausgangsseitig mit der Heizung (6, 6') und dem Verdampfer (4, 4') verbunden ist.
5. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass zur Messung der Temperatur in der Kühlkammer (1, 1') mehrere mit dem Mehrfachregler (11) verbundene Temperatursensoren (8-10, 8', 9', 17', 19') vorgesehen sind.
6. Kühleinrichtung nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Temperatursensoren (8-10, 8', 9', 17', 19') zur Messung der räumlichen Temperaturverteilung räumlich verteilt angeordnet sind.
7. Kühleinrichtung nach Anspruch 5 oder 6, **dadurch gekennzeichnet**, dass mindestens einer der Temperatursensoren (8-10, 8', 9', 17', 19') ein Thermoelement und mindestens einer der Temperatursensoren (8-10, 8', 9', 17', 19') ein temperaturabhängiger elektrischer Widerstand ist.
8. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Heizung (6, 6') in die Kühlmittelzuleitung (5, 5') integriert ist.
9. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Kühlmittel (3, 3') Stickstoff ist.
10. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass der erste Temperatursensor (8-10, 8', 9', 17', 19') und/oder der zweite Temperatursensor

(7, 7') mit einer Speichereinrichtung (12, 12') verbunden ist, welche die Temperaturverläufe speichert.

11. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kühlmittelzuleitung (5, 5') über einen Diffusor (14, 14') in die Kühlkammer (1, 1') mündet.

12. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kühlmittelzuleitung (5) seitlich in die Kühlkammer (1) mündet.

13. Kühleinrichtung nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kühlmittelzuleitung (5) nur an einer Seite der Kühlkammer (1) in die Kühlkammer (1) mündet.

14. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kühlmittelzuleitung (5') an der Oberseite der Kühlkammer (1') in die Kühlkammer (1') mündet.

15. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kühlkammer (1) geschlossen ist.

16. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kühlkammer (1') an ihrer Unterseite offen ist.

17. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kühlkammer (1') portabel ist.



18. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der erste Temperatursensor (17') innerhalb der Kühlkammer (1') und zu deren Wandung beabstandet angeordnet ist.

5

19. Kühleinrichtung nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet, dass** der erste Temperatursensor (17') durch eine in die Kühlkammer (1') hineinragende Halteeinrichtung (18') an der Kühlkammer (1') befestigt ist.

10

20. Kühleinrichtung nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet, dass** der erste Temperatursensor (19') an der Probe (15') oder an einem Probenhalter angebracht ist.

15 21. Kühleinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der erste Temperatursensor (19') mit einem Transponder verbunden ist, der die gemessene Temperatur drahtlos an die Regeleinrichtung (11') überträgt.

20 22. Kühleinrichtung nach Anspruch 21, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Transponder ein Funk-Transponder, ein Ultraschall-Transponder, ein optischer Transponder oder ein Infrarot-Transponder ist.

25 23. Betriebsverfahren für eine Kühleinrichtung, insbesondere zur Kryokonservierung biologischer Proben (15'), mit den folgenden Schritten:

- Einleitung eines Kühlmittels (3, 3') in eine Kühlkammer (1, 1') zur Kühlung von Kühlgut,
- 30 - Erwärmung des Kühlmittels (3, 3') vor der Einleitung in die Kühlkammer (1, 1') mit einer einstellbaren ersten Heizleistung (P2),
- Messung der Temperatur (T1, T1') des erwärmten Kühlmittels (3, 3'),

- Messung der Temperatur ( $T_2$ - $T_4$ ,  $T_2'$ ,  $T_3'$ ) in der Kühlkammer (1, 1'),
- Regelung der Temperatur,

**dadurch gekennzeichnet, dass**

- 5 eine Mehrfachregelung erfolgt, indem beide Temperaturen ( $T_1$ - $T_4$ ,  $T_1'$ ,  $T_2'$ ,  $T_3'$ ) als Regelgrößen erfasst werden und/oder indem zusätzlich zu der ersten Heizleistung ( $P_2$ ,  $P_2'$ ) eine weitere Stellgröße ( $P_1$ ,  $P_1'$ ) eingestellt wird.

- 10 24. Betriebsverfahren nach Anspruch 23, **gekennzeichnet durch** folgende Schritte:

- Verdampfung des flüssigen Kühlmittels (3, 3') in einem Kühlmittelvorratsbehälter (2, 2') mit einer einstellbaren zweiten Heizleistung ( $P_1$ ,  $P_1'$ ),
- 15 - Erwärmung des verdampften Kühlmittels (3, 3') vor der Einleitung in die Kühlkammer (1, 1') mit der einstellbaren ersten Heizleistung ( $P_2$ ,  $P_2'$ ),
- Mehrfachregelung der ersten Heizleistung ( $P_2$ ) und der zweiten Heizleistung ( $P_1$ ,  $P_1'$ ).

20

25. Betriebsverfahren nach Anspruch 23 oder 24, **gekennzeichnet** durch folgende Schritte:

- Messung mehrerer räumlich verteilter Temperaturen ( $T_2$ - $T_4$ ,  $T_2'$ ,  $T_3'$ ) innerhalb der Kühlkammer (1, 1'),
- 25 - Mehrfachregelung der ersten Heizleistung ( $P_2$ ,  $P_2'$ ) und/oder der zweiten Heizleistung ( $P_1$ ,  $P_1'$ ) in Abhängigkeit von den verschiedenen Temperaturen ( $T_2$ - $T_4$ ,  $T_2'$ ,  $T_3'$ ) innerhalb der Kühlkammer (1, 1').

- 30 26. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 23 bis 25, gekennzeichnet durch folgende Schritte:

- Messung der Temperatur ( $T_2$ - $T_4$ ,  $T_2'$ ,  $T_3'$ ) in der Kühlkammer (1, 1') und/oder der Temperatur ( $T_1$ ,  $T_1'$ ) des Kühlmittels

(3, 3') vor der Einleitung in die Kühlkammer (1, 1') mit einem Thermoelement,

- Messung der Temperatur ( $T_2$ - $T_4$ ,  $T_2'$ ,  $T_3'$ ) in der Kühlkammer (1, 1') und/oder der Temperatur ( $T_1$ ,  $T_1'$ ) des Kühlmittels

5 (3, 3') vor der Einleitung in die Kühlkammer (1, 1') mit einem temperaturabhängigen Widerstand,

- Mehrfachregelung der ersten Heizleistung ( $P_2$ ,  $P_2'$ ) und/oder der zweiten Heizleistung ( $P_1$ ,  $P_1'$ ) in Abhängigkeit von der von dem Thermoelement gemessenen Temperatur und der von dem temperaturabhängigen Widerstand gemessenen Temperatur.

10

27. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 23 bis 26, **gekennzeichnet durch** folgende Schritte:

- 15 - Vorgabe eines Sollwerts ( $T_{\text{SOLL}}$ ) für die Temperatur in der Kühlkammer (1, 1'),
- Regelung der Temperatur ( $T_1$ ,  $T_1'$ ) des in die Kühlkammer (1, 1') eintretenden Kühlmittels (3, 3') entsprechend dem für die Kühlkammer (1, 1') vorgegebenen Sollwert ( $T_{\text{SOLL}}$ )
- 20 durch eine Einstellung der ersten Heizleistung ( $P_2$ ,  $P_2'$ ).

28. Betriebsverfahren nach Anspruch 27, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Temperatur ( $T_1$ ,  $T_1'$ ) des in die Kühlkammer (1, 1') eintretenden Kühlmittels (3, 3') auf den Sollwert ( $T_{\text{SOLL}}$ ) für die Temperatur in der Kühlkammer (1, 1') geregelt wird.

25

29. Verwendung einer Kühleinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 22 zur Kryokonservierung biologischer Proben (15').

30

\* \* \* \* \*

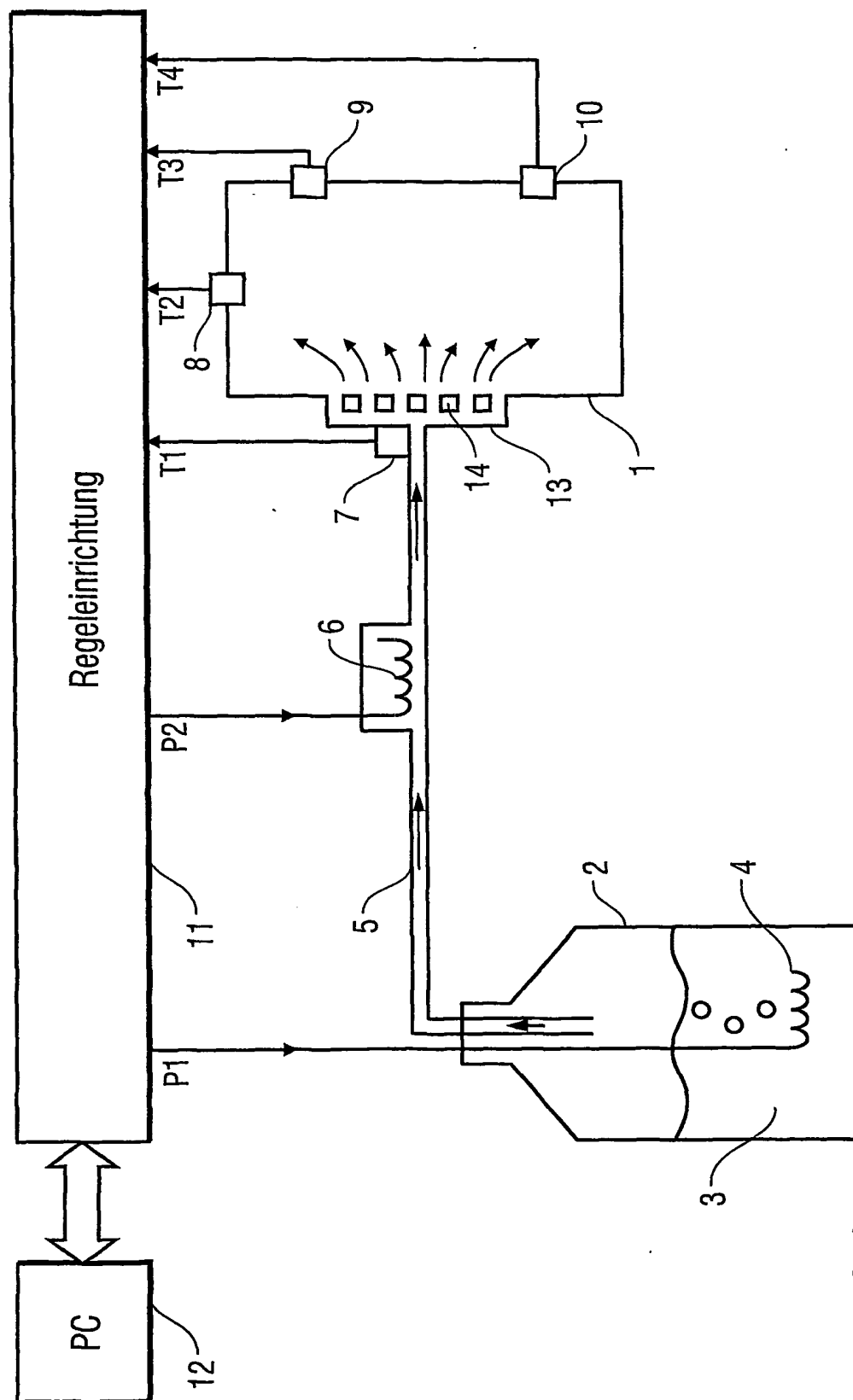
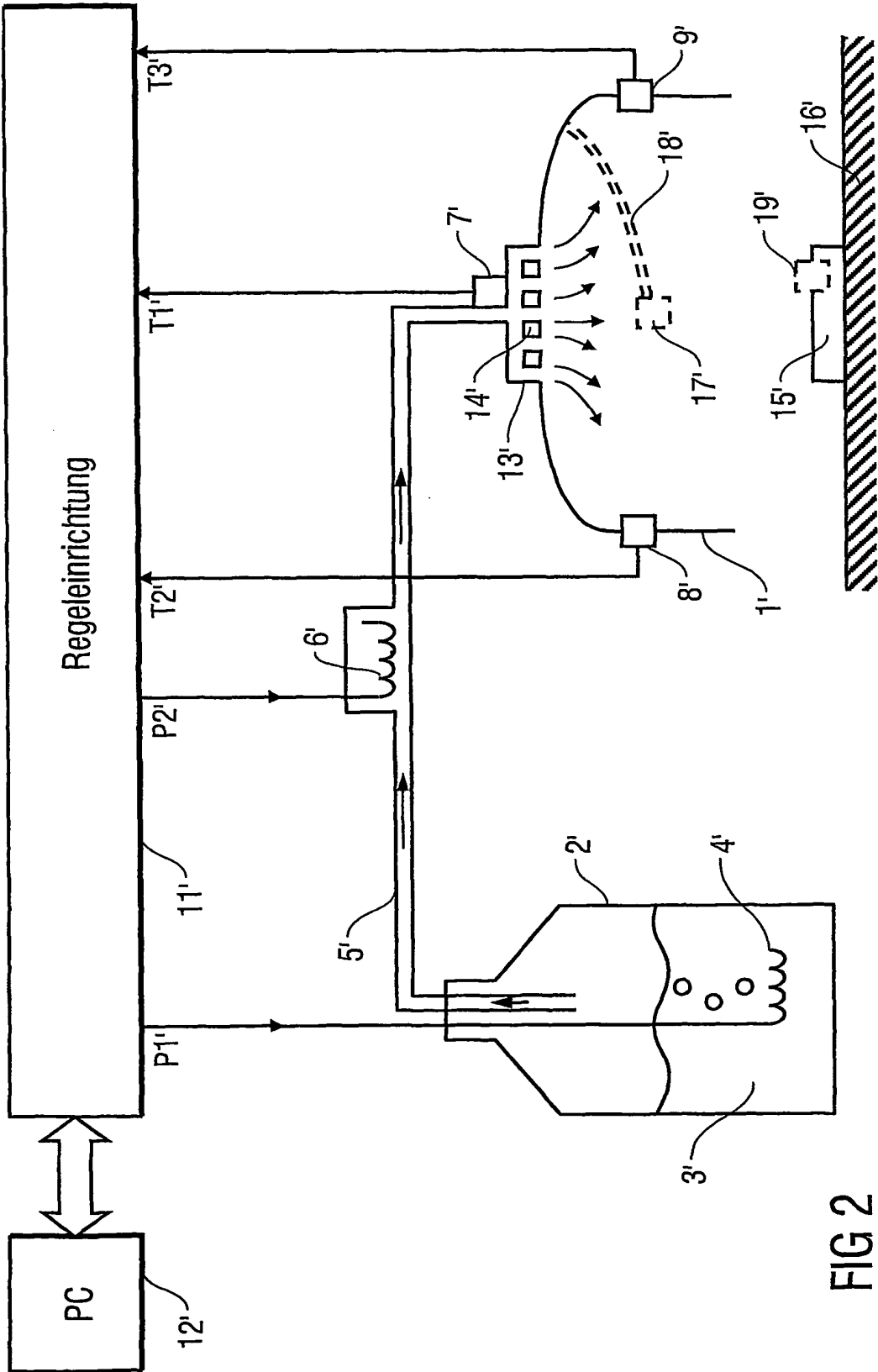


FIG 1



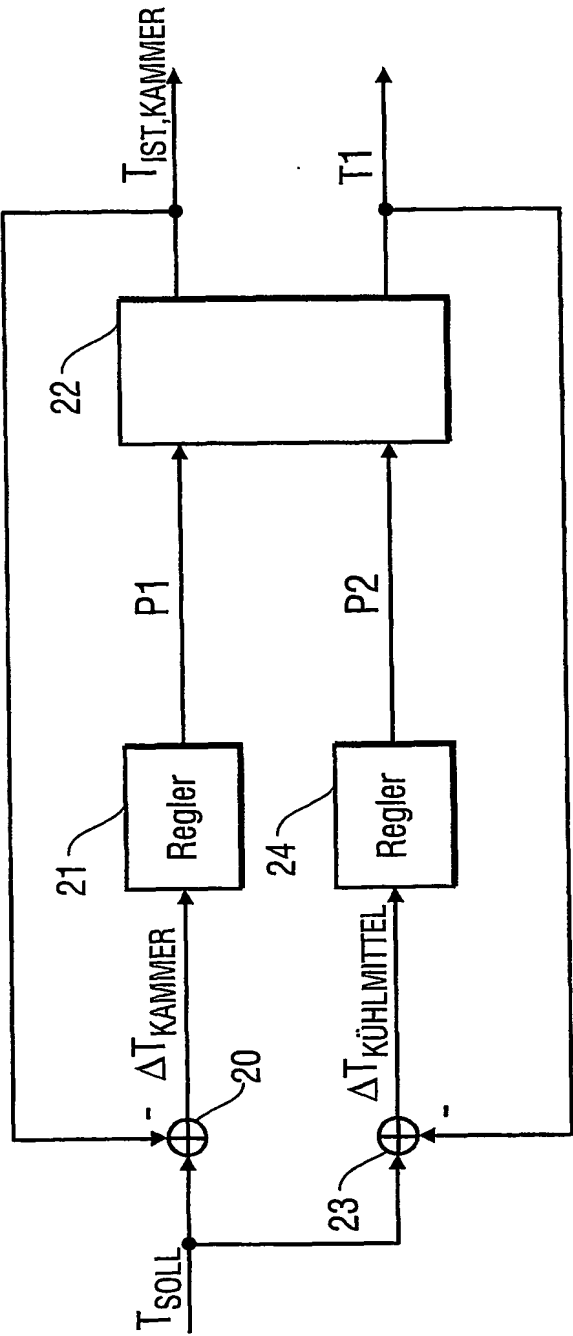


FIG 3

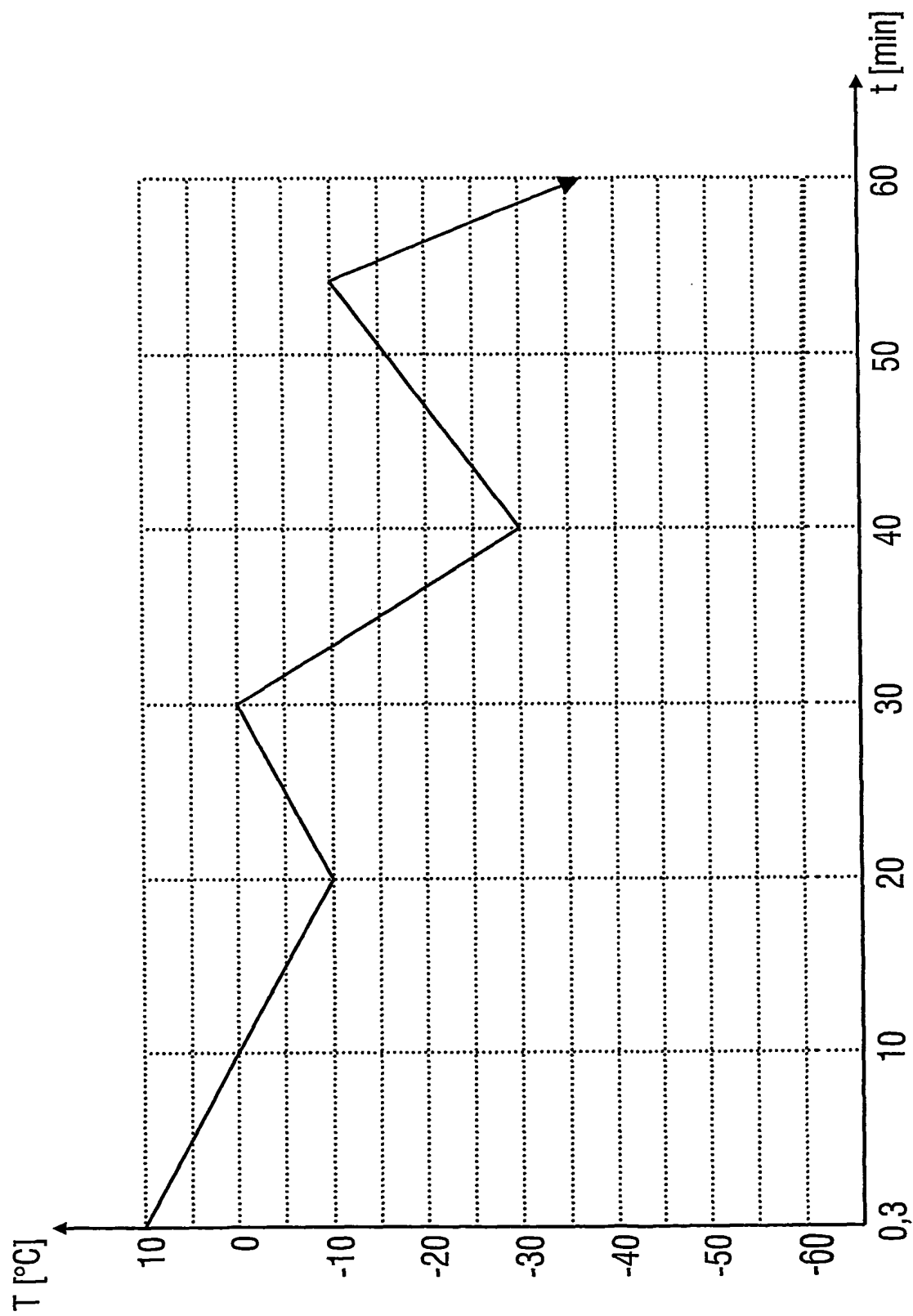


FIG 4

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/011172

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N1/42 B01L7/00 G05D23/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N G05D B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DE 88 07 267 U (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT) 28 July 1988 (1988-07-28) cited in the application page 3, line 30 - page 5, line 10; figure 1	1-29
Y	US 2003/029179 A1 (GLENTZ JOSEPH LOUIS ET AL) 13 February 2003 (2003-02-13) paragraphs '0023!', '0024! paragraph '0028!; figure 2	1-29
A	US 5 048 300 A (LIHL REINHARD) 17 September 1991 (1991-09-17) column 4, line 13 - column 5, line 17 ----- -/--	1,23

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 December 2004

Date of mailing of the international search report

01/02/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cantalapiedra, I



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2004/011172

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 003 787 A (ZLOBINSKY YURY) 2 April 1991 (1991-04-02) column 2, line 49 - column 6, line 20; figure 2	1,23
A	US 4 566 283 A (BOESE ROLAND) 28 January 1986 (1986-01-28) column 2, lines 17-30; figure 1	1,23

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/011172

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 8807267	U	28-07-1988	DE 8807267 U1	28-07-1988
US 2003029179	A1	13-02-2003	DE 10229864 A1	27-03-2003
			JP 2003083595 A	19-03-2003
			DE 10229865 A1	03-04-2003
			JP 2003220823 A	05-08-2003
			US 2003019219 A1	30-01-2003
US 5048300	A	17-09-1991	DE 4012600 A1	29-11-1990
US 5003787	A	02-04-1991	DE 4023573 A1	25-07-1991
			FR 2657150 A1	19-07-1991
			GB 2240165 A	24-07-1991
			JP 3220101 A	27-09-1991
US 4566283	A	28-01-1986	NONE	

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/011172

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N1/42 B01L7/00 G05D23/20

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N G05D B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>a</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	DE 88 07 267 U (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT) 28. Juli 1988 (1988-07-28) in der Anmeldung erwähnt Seite 3, Zeile 30 - Seite 5, Zeile 10; Abbildung 1	1-29
Y	US 2003/029179 A1 (GLENTZ JOSEPH LOUIS ET AL) 13. Februar 2003 (2003-02-13) Absätze '0023!', '0024! Absatz '0028!; Abbildung 2	1-29
A	US 5 048 300 A (LIHL REINHARD) 17. September 1991 (1991-09-17) Spalte 4, Zeile 13 - Spalte 5, Zeile 17	1,23
	----- -/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie<sup>a</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&amp;\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

20. Dezember 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

01/02/2005

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Cantalapiedra, I

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP2004/011172

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 003 787 A (ZLOBINSKY YURY) 2. April 1991 (1991-04-02) Spalte 2, Zeile 49 - Spalte 6, Zeile 20; Abbildung 2 -----	1,23
A	US 4 566 283 A (BOESE ROLAND) 28. Januar 1986 (1986-01-28) Spalte 2, Zeilen 17-30; Abbildung 1 -----	1,23

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/011172

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 8807267 U	28-07-1988	DE 8807267 U1	28-07-1988
US 2003029179 A1	13-02-2003	DE 10229864 A1	27-03-2003
		JP 2003083595 A	19-03-2003
		DE 10229865 A1	03-04-2003
		JP 2003220823 A	05-08-2003
		US 2003019219 A1	30-01-2003
US 5048300 A	17-09-1991	DE 4012600 A1	29-11-1990
US 5003787 A	02-04-1991	DE 4023573 A1	25-07-1991
		FR 2657150 A1	19-07-1991
		GB 2240165 A	24-07-1991
		JP 3220101 A	27-09-1991
US 4566283 A	28-01-1986	KEINE	